

เพ็ญประภา ปิยธรรมวิบูลย์ : ผลของโปรตีนซาร์โคพลาสมิกจากปลาทรายแดงต่อการเพิ่ม
คุณภาพเจลซูริมิปลาปากคม (EFFECT OF SARCOPLASMIC PROTEINS FROM
THREADFIN BREAM AS GEL ENHANCER OF LIZARDFISH SURIMI
GEL) อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร.จิรวัดน์ ขงสวัสดิกุล, 111 หน้า

ปลาทรายแดง (*Nemipterus* spp.) เป็นปลาสายพันธุ์หลักที่ใช้เป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตซูริมิในประเทศไทย มีปริมาณโปรตีนซาร์โคพลาสมิกจากปลาทรายแดงเป็นจำนวนมากเกิดขึ้นจากขั้นตอนการล้างของการผลิตซูริมิ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ คือ เก็บเกี่ยวโปรตีนซาร์โคพลาสมิกจากน้ำล้างปลาทรายแดง (TBSP) ศึกษาคุณลักษณะของเอนไซม์ทรานสกลูตามิเนสและตรวจวัดกิจกรรมของการยับยั้งเอนไซม์โปรตีเนสที่มีอยู่ในโปรตีนซาร์โคพลาสมิกจากปลาทรายแดง โปรตีนซาร์โคพลาสมิกจากปลาทรายแดงทำให้เข้มข้นด้วยอัลตราฟิลเตรชันที่มีเยื่อกรองขนาด 30 กิโลดาลตัน แสดงกิจกรรมของเอนไซม์ทรานสกลูตามิเนสที่ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และที่พีเอช 7.5 การเติมแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) ส่งเสริมกิจกรรมของเอนไซม์ทรานสกลูตามิเนสเมื่อเพิ่มปริมาณแคลเซียมจนถึงความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ เอนไซม์ทรานสกลูตามิเนสแสดงกิจกรรมสูงสุดที่ความเข้มข้นของดีทีที (DTT) 1 มิลลิโมลาร์ โปรตีนซาร์โคพลาสมิกจากน้ำล้างปลาทรายแดงสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเชื่อมโยงโมเลกุลโปรตีนในโปรตีนอัลบูมินจากวัว (BSA) เมื่อทำการบ่มที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ทรานสกลูตามิเนสบนแผ่นเจลอะคริลาไมด์สภาพธรรมชาติ (Native-PAGE) โดยทำปฏิกิริยากับโมโนแดนซิลคาดาเวอรีน (Monodansylcadavarine) และไดเมทิลเคซีน (di-Methylated casein) พบว่ามีโปรตีน 2 แถบเรืองแสงภายใต้แสงฟลูออเรสเซนซ์ โดยมีขนาด 78 และ 189 กิโลดาลตัน โปรตีน 2 แถบที่เรืองแสงภายใต้แสงฟลูออเรสเซนซ์มีขนาดโมเลกุล 66 กิโลดาลตัน เมื่อวิเคราะห์โดยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิสแบบสูญเสียสภาพธรรมชาติ (SDS-PAGE)

โปรตีนซาร์โคพลาสมิกจากน้ำล้างปลาทรายแดงแสดงความสามารถในการเพิ่มค่าความแข็งแรงในซูริมิปลาปากคม การเติมแคลเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับการเติมโปรตีนซาร์โคพลาสมิกจากน้ำล้างปลาทรายแดงเข้มข้น 1.6 เปอร์เซ็นต์ในซูริมิปลาปากคมแสดงค่าแรงและค่าระยะทาง ณ จุดแตกหักสูงที่สุดเมื่อทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

การศึกษากิจกรรมการยับยั้งเอนไซม์โปรตีเนสต่อเอนไซม์ทริปซิน ปาเปน และไลโมทริปซินพบว่าโปรตีนซาร์โคพลาสมิกสามารถยับยั้งการทำงานของทริปซินได้ และการยับยั้งลดลงเมื่อบ่มที่ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ผลของ SDS-PAGE ภายใต้สภาวะไม่ถูกรีดิวซ์ (Non-

reducing) ซ้อมด้วยสารละลายทริปซิน แสดงแถบโปรตีน 3 แถบ ขนาดโมเลกุล 95, 41 และ 37 กิโลดาลตัน ที่สามารถทนการย่อยของสารละลายทริปซิน ค่าแรงและระยะทาง ณ จุดแตกหักของซู-ริมิปลาปากคมที่บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เพิ่มขึ้นเมื่อเติมโปรตีนชาร์โคพลาสติก และพบว่าปริมาณโอลิโกเปปไทด์ (TCA-oligopeptide content) ของเจลซูริมิลดลงเมื่อเติมโปรตีนชาร์โคพลาสติก 0.4 เปอร์เซ็นต์ การคงอยู่ของมัยโอซินสายหลัก (MHC) เพิ่มขึ้นเมื่อมีการเติมโปรตีนชาร์โคพลาสติกเพิ่มขึ้น เมื่อทำการบ่มซูริมิปลาปากคมที่ 37 องศาเซลเซียส การเติมโปรตีนชาร์โคพลาสติกมีผลลดการเสื่อมสลายมัยโอซินสายหลักแต่ไม่พบปรากฏการณ์ดังกล่าวเมื่อทำการบ่มปลาปากคมที่ 65 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามการเพิ่มความแข็งแรงเจลของซูริมิปลาปากคมอาจเกิดจากบทบาทของกิจกรรมเอนไซม์ทรานสกลูตามิเนสและสารยับยั้งเอนไซม์โปรตีนเอสที่มีอยู่ในโปรตีนชาร์โคพลาสติก

PENPRABHA PIYADHAMMAVIBOON : EFFECT OF SARCOPLASMIC
PROTEINS FROM THREADFIN BREAM AS GEL ENHANCER OF
LIZARDFISH SURIMI GEL. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF.
JIRAWAT YONGSAWATDIGUL, Ph.D., 111 PP.

THREADFIN BREAM / SARCOPLASMIC PROTEIN/ PROTEINASE
INHIBITOR/TRANSGLUTAMINASE/ SURIMI

Threadfin bream (*Nemipterus* spp. ; TB) is the main species used as raw material for surimi production in Thailand. Large amount of sarcoplasmic proteins is typically eliminated during washing step of surimi production. The objectives of this study were to recover sarcoplasmic protein from TB wash water, characterize TGase contained in the sarcoplasmic protein and investigate the proteinase inhibitory activity. Threadfin bream sarcoplasmic proteins (TBSP) were concentrated by ultrafiltration using a membrane with molecular weight cut-off 30 kDa. Optimum TGase activity from TBSP was at 37°C, pH 7.5. An addition of CaCl₂ promoted TGase activity and reached the maximum at 5 mM CaCl₂. The highest TGase activity was found at 1 mM dithiothreitol (DTT). TBSP induced cross-linkings of bovine serum albumin when incubated at 25°C for 6 h. TGase activity staining by monodansylcadavarine (MDC) on native-polyacrylamide gel electrophoresis showed 2 distinct fluorescent bands with molecular weight (MW) of 78 and 189 kDa. Two proteins showing fluorescence bands exhibited MW of 66 kDa on SDS-PAGE. An addition of 0.1% CaCl₂ in combination with 1.6% TBSP exhibited the highest breaking force and deformation of

lizardfish surimi when pre-incubated at 37°C for 20 min. TBSP showed potential to enhance gel strength of lizardfish surimi.

The inhibitory activity of TBSP was also investigated against three proteinases, namely papain, trypsin and α -chymotrypsin. TBSP exhibited an inhibitory activity toward trypsin and its activity diminished when incubated at 55°C for 15 min. SDS-PAGE under non-reducing condition stained by trypsin revealed three protein bands with MW of 95, 41 and 37 kDa. Breaking force and deformation of lizardfish surimi gel added TBSP and pre-incubated at 37°C for 20 min increased with the addition of TBSP ($p<0.05$). TCA-oligopeptide content of lizardfish surimi gel added TBSP decreased at 0.4% TBSP ($p<0.05$). Retention of myosin heavy chain (MHC) increased when TBSP concentration increased. TBSP effectively protected MHC from proteolysis when incubated at 37°C, but an efficacy of TBSP on the degradation of MHC was not observed at 65°C. However, both TGase activity and proteinase inhibitory activity of TBSP played an important role in contributing gel enhancing effects to lizardfish surimi.

School of Food Technology

Academic Year 2008

Student' Signature_____

Advisor' Signature_____